

Title	分裂酵母を用いた新規微小管制御因子Scp3の機能解析( Abstract_要旨)
Author(s)	尾崎, 加奈子
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-05-25
URL	<a href="http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k19204">http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k19204</a>
Right	学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約 は2015-05-26に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

京都大学	博士（生命科学）	氏名	尾崎 加奈子
論文題目	分裂酵母を用いた新規微小管制御因子Scp3の機能解析		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>微小管は、細胞内輸送や細胞形態の維持、さらに染色体分配において重要な機能を発揮する。これまでに、<i>in vivo</i> と <i>in vitro</i> の実験系における機能解析、及び制御機構の研究が進められ、微小管重合あるいは脱重合過程に阻害的に作用する薬剤が、医療や農業に使用されている。CIPC (isopropyl N-3-chlorophenyl carbamate) は、他の生物種では多極紡錘体形成を促進し、除草剤として広く使用されている薬剤である。この薬剤が微小管を標的とすることが推測されているが、その作用機序は不明であった。本研究において申請者は、分裂酵母の CIPC 高感受性変異体である <i>cps3-81</i> と、その多コピーサプレッサーとである <i>scp3<sup>+</sup></i> (a suppressor of CIPC supersensitive mutant 3) 遺伝子の機能解析を試みた。</p> <p><i>scp3<sup>+</sup></i> 遺伝子の欠損及び過剰発現は、それぞれ間期微小管の配向性異常と微小管束形成を促進した。さらに、<i>scp3<sup>+</sup></i> の過剰発現は、<i>cps3-81</i> 変異体やCIPC処理後の野生型株に見られる間期微小管配向性異常を抑圧した。また、既知の直接的微小管束形成因子である <i>ase1<sup>+</sup></i> 遺伝子の欠損株に見られる間期微小管配向性異常に対しても抑圧効果を示した。これらの結果は、Scp3タンパク質が微小管束形成を促進する因子であることを示唆する。微小管を標的とする薬剤の多くが、重合か脱重合を阻害することが知られているが、本研究で解析したCIPCは、微小管束形成を阻害するという新規の特性をもつことが示唆された。Scp3タンパク質の細胞内局在観察では、このタンパク質の微小管や微小管形成中心 (MTOC) への局在を確認できなかった。よって、Scp3タンパク質は間接的な微小管制御因子であると考えられた。</p> <p>申請者は、分裂期における Scp3 タンパク質の機能についても解析した。微小管に作用する薬剤の多くが、分裂期紡錘体を直接の標的とする。分裂期紡錘体の正常な形成と姉妹染色分体のタイムリーな解離は、娘細胞の生存に必須である。このタイミングはスピンドルチェックポイント機構によって監視されており、構成因子である Mph1 はスピンドルチェックポイントの中核として機能する。Mph1 の細胞内過剰発現は分裂中期停止に伴った生育阻害を示すことが分かっているが、<i>scp3<sup>+</sup></i> の過剰発現により、Mph1 過剰発現による生育阻害を抑圧することが明らかとなった。Mph1 過剰発現による生育阻害に対する <i>scp3<sup>+</sup></i> の過剰発現による抑圧効果の詳細を調べた結果、Scp3 は Mph1 過剰発現に見られる分裂中期紡錘体異常を正常化させる作用を持つことが明らかとなった。これらの結果は、Scp3 タンパク質が分裂中期紡錘体維持に関与すると同時に、スピンドルチェックポイントとは別の部分で分裂後期への進行に関与していることを示唆した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

微小管は $\alpha$ -チューブリンと $\beta$ -チューブリンの重合と脱重合により、その全長が制御され、機能は細胞内輸送、形態維持、染色体分配と多岐に及ぶ。チューブリンの重合／脱重合過程を標的とする薬剤は、抗がん剤や除草剤として使用されている。細胞内においては、複数の微小管が束を形成して、その機能を発揮すると考えられているが、束形成の制御因子と、これを阻害する薬剤に関する知見は乏しい。

本学位論文は、微小管の束形成に関与する因子と、束形成を阻害する薬剤、CIPC (isopropyl N-3-chlorophenyl carbamate) について、分裂酵母を用いた遺伝学的、細胞生物学的解析の結果を報告したものである。まず、先行研究により単離されたCIPCに対して高感受性を示す*cps3-81*変異体では、細胞周期の間期において、微小管束の不全に起因する微小管の配向性異常が生ずること、また野生型株をCIPC存在化で培養することにより、同様の異常が生じることを示した。また、*cps3-81*変異体のCIPC高感受性を高発現により抑制する遺伝子*scp3<sup>+</sup>*は、その欠損により微小管の配向性異常が生ずること、また高発現により微小管束の形成を促進することを示した。さらに、既知の微小管束形成因子であるAse1タンパク質とは異なる経路で機能することも明らかにした。また有糸分裂期におけるScp3タンパク質の機能についても解析し、このタンパク質が分裂中期紡錘体維持に関与することを示唆した。

本研究は、微小管束の形成過程に関わる因子と薬剤の阻害効果を解析することで、微小管束形成のメカニズムの一端を見出したものである。論文は終始首尾一貫性をもって記述されており、生命科学の理解や発展に寄与する新たな概念や発見を含んでいた。よって本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

(試問結果の要旨)

平成27年3月3日に、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。公聴会での発表は、本研究の結果と意義を明確に示すものであった。また、その後の質疑応答では、モデルの妥当性と将来展望について詳細な議論がなされ、申請者の当該分野における高い学識と考察力、さらに十分な研究経験を示すものであった。以上の結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日